

Уникальная форма кинетики флуоресценции при двухступенчатом фотовозбуждении (два разнонаправленных пика), в сочетании с характерным спектральным положением полос флуоресценции исследуемого флуорофора, является надежным критерием его обнаружения и/или идентификации. Метод может стать новым эффективным инструментом как обнаружения, так и характеристики органических флуорофоров в модельных и биологических системах.

Литература

1. Шмидт В. Оптическая спектроскопия для химиков и биологов. – Москва, Техносфера – 2007 – 368 с.
2. Станишевский И.В., Соловьев К.Н., Арабей С.М., Чернявский В.А. Фейдинг и антифейдинг флуоресценции фотостойких органических пигментов // Сборник научных трудов «IV Конгресс физиков Беларуси» – Минск: Ковчег, 2013. – С.216–217.
3. Станишевский И.В., Соловьев К.Н., Арабей С.М., Чернявский В.А. Влияние нижнего триплетного состояния на кинетику уменьшения и восстановления интенсивности флуоресценции фотостойких органических флуорофоров // ЖПС. – 2013. – Т.80, №3. – С.368–372.
4. Provencher, S.W. CONTIN: A general purpose constrained regularization program for inverting noisy linear algebraic and integral equations // Computer Physics Communications – 1982. – Vol.27, No.3. – P.229–242.
5. Gouterman M. In «The Porphyrins» ed. D. Dolphin, Elsevier, Academic Press Inc., Vol.III. Physical Chemistry Part A. – 1978. – P.1–163.

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАСЧЕТА ФРАКТАЛЬНОЙ РАЗМЕРНОСТИ АСМ-ИЗОБРАЖЕНИЙ ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТОК

Стародубцева М.Н.¹, Стародубцев И.Е.¹, Стародубцев Е.Г.²

¹УО «Гомельский государственный медицинский университет»,

²УО «Гомельский государственный технический университет имени П.О. Сухого», г. Гомель, Республика Беларусь

Одной из важных характеристик структуры поверхности объектов различной природы, включая поверхность клеток, является фрактальная размерность (D_F). На основе данных атомно-силовой микроскопии (АСМ)

строятся как топографические изображения поверхности, так и карты распределения физико-механических свойств (локальных сил), соответствующих этой поверхности. Данные «АСМ-поверхности» представляют собой наборы точек с координатами (x, y, z) , расстояние между которыми определяется шагом сканирования в плоскости (x, y) и масштабом по оси Z . Для оценки D_F поверхности необходима сопоставимость размеров формирующих ее микрообъектов и шага сканирования. Так как основной вклад в физико-механические свойства поверхности клеток вносит приповерхностный (кортикальный) цитоскелет, то необходимо ориентироваться на размеры его элементов. Диаметр наименьшего элемента (актинового микрофиламента) составляет 5-7 нм. Естественно, что оценивать влияние структуры кортикального цитоскелета на сложность организации поверхностного слоя клетки с помощью АСМ целесообразно при шаге сканирования менее 10 нм. При записи и анализе карт физико-механических свойств (сил) поверхности клеток имеется неопределенность масштабирования данных по оси Z . Если в случае топографических изображений поверхности все оси (X, Y, Z) имеют размерность длины (например, нанометры), то в случае карт распределения локальных физико-механических сил только две оси имеют размерность длины, а ось Z имеет размерность силы. В последнем случае D_F зависит как от выбранной единицы измерения силы (ньютоны, наноньютоны, дины), так и от точности калибровки силы, т. е. является функцией от коэффициента масштабирования t оси Z ($D_F = \varphi(t)$).

Целью работы являлось установление закономерностей изменения величины D_F с изменением расстояния между точками АСМ-изображения с использованием модельных поверхностей.

Результаты и их обсуждение. В работе фрактальная размерность поверхности рассчитывалась с помощью метода подсчета кубов (box-counting) [1]. Область пространства, включающая исследуемую поверхность, разбивается кубической решеткой с некоторым начальным шагом, зависящим от размеров поверхности. Затем подсчитывается количество кубов решетки, в которых есть точки исследуемой поверхности, и ребро куба решетки уменьшается в 2 раза, после чего процесс повторяется до тех пор, пока ребро куба не станет меньше шага сканирования, умноженного на некоторую константу. По полученным данным строится массив пар значений – логарифм количества кубов и логарифм величины, обратной размеру ребра куба. Эти данные представляют собой точки графика в логарифмическом масштабе. Они могут быть аппроксимированы прямой, тангенс угла наклона которой является фрактальной размерностью исследуемой поверхности.

Для уточнения влияния шага сканирования на значение D_F использовалась модельная поверхность (плоскость):

$$f_1(x, y) = H = const \quad (1)$$

с разным расстоянием между точками (шагом сканирования, s). С уменьшением s значение D_F увеличивается и стремится к 2 при s , стремящемся к 0. Полученные данные отражают тот факт, что АСМ-изображения являются дискретными изображениями реальных поверхностей, параметр D_F для этих изображений всегда меньше значения параметра реальных поверхностей.

В работе изучена зависимость D_F от коэффициента масштабирования t оси Z для ряда модельных поверхностей. Для изученных поверхностей D_F при малых значениях t стремится к 2 (т.е. к значению, характерному для плоскости), а при больших – к 1 (к значению, характерному для прямой линии). В промежуточной области значений t зависимость $D_F=\varphi(t)$ характеризуется наличием нескольких максимумов (пиков). С использованием модельных поверхностей, описываемых функциями:

$$f_2(x, y) = H \sin(\omega\sqrt{x^2 + y^2}), \quad f_3(x, y) = |f_2(x, y)| = H |\sin(\omega\sqrt{x^2 + y^2})|, \quad (2)$$

где H – амплитуда и ω - пространственная частота, изучено влияние на форму зависимости $D_F=\varphi(t)$ амплитуды и частоты неровностей поверхности в виде концентрических волн с центром в точке $(0,0)$. С увеличением частоты на кривой $D_F=\varphi(t)$ второй пик превалирует над первым пиком в области малых частот, а в области больших частот – первый пик превалирует над вторым пиком.

В работе также использовали поверхность, представляющую собой плоскость с несколькими пиками Гаусса, расположенными на ней в случайном порядке, и описываемую функцией:

$$f_4(x, y) = \sum_{k=1}^n \frac{C_k}{2\pi\sigma_k^2} \exp\left(-\frac{(x-x_k)^2+(y-y_k)^2}{2\sigma_k^2}\right) \quad (3)$$

где (x_k, y_k) – координаты центра, C_k и σ_k – параметры, характеризующие высоту и ширину k -го пика. При изменении параметров этой поверхности (высоты, ширины и положения пиков) установлено, что существенное влияние на зависимость $D_F=\varphi(t)$ оказывает изменение ширины пиков.

Таким образом, зависимость $D_F=\varphi(t)$ описывает особенности структуры поверхности и является её обобщенной характеристикой. Например, при сравнении свойств реальных поверхностей на основе анализа их АСМ-изображений кривая $D_F=\varphi(t)$ сдвигается в сторону меньших значений t с увеличением высоты неровностей на поверхности. Если на кривой зависимости $D_F=\varphi(t)$ первый пик выше второго пика, то поверхность имеет частые мелкомасштабные неоднородности, а если второй пик выше первого пика, то поверхность относительно гладкая с редкими масштабными неоднородностями.

Заключение. Введена новая характеристика АСМ-изображений поверхностей клеток – зависимость D_F карт физико-механических свойств этих поверхностей от коэффициента масштабирования t оси Z ($D_F=\varphi(t)$), которая более полно характеризует особенности поверхности клеток в сравнении с D_F для единственного значения t .

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (Б14-042).

Литература

1. Кроновер, Р.М. Фракталы и хаос в динамических системах. Основы теории. / Р.М. Кроновер // –М.: Постмаркет, 2000. – 352 с.